

# CARCINOSTATIC AGENT

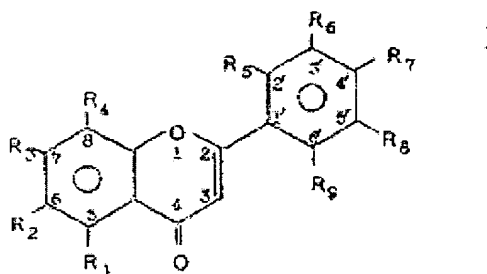
Patent number: JP60199817  
 Publication date: 1985-10-09  
 Inventor: TAKAHASHI NOBUTAKA; others: 02  
 Applicant: RIKAGAKU KENKYUSHO  
 Classification:  
 - international: A61K31/35  
 - european:  
 Application number: JP19840055333 19840323  
 Priority number(s):

Report a data error here

## Abstract of JP60199817

**PURPOSE:** A carcinostatic agent, containing a flavonoid and monoglyceride as active constituents, having differentiation inductive activity against animal tumorous cells and low toxicity, and capable of exhibiting improved carcinostatic activity.

**CONSTITUTION:** A carcinostatic agent containing a flavonoid of formula I (R1- R9 are H, OH or lower alkyloxy), e.g. apigenin (R1, R3 and R7 are OH) or nobiletin (R1-R4, R6 and R7 are OCH3), and a monoglyceride of formula II (R10 is 10-30C fatty acid residue), e.g. glycerol monooleate as active constituents. The above-mentioned carcinostatic agent can be used by either one of oral and parenteral administration, and the daily dose thereof is 0.01-100mg/kg body weight for adults in the case of oral administration, and the upper limit thereof is preferably about 10mg/kg body weight. In the case of parenteral administration, the upper limit thereof is 10mg/kg body weight, particularly preferably about 2mg/kg body weight.



Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

ATTORNEY DOCKET NUMBER: 11592-006-999  
 SERIAL NUMBER: 10/088,664  
 REFERENCE: B19

BEST AVAILABLE COPY

**CARCINOSTATIC AGENT**

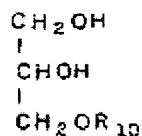
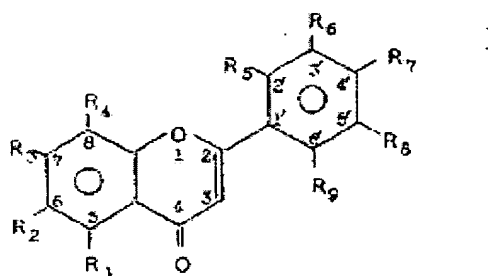
**Patent number:** JP60199817  
**Publication date:** 1985-10-09  
**Inventor:** TAKAHASHI NOBUTAKA; others: 02  
**Applicant:** RIKAGAKU KENKYUSHO  
**Classification:**  
**- international:** A61K31/35  
**- european:**  
**Application number:** JP19840055333 19840323  
**Priority number(s):**

**Report a data error here**

**Abstract of JP60199817**

**PURPOSE:**A carcinostatic agent, containing a flavonoid and monoglyceride as active constituents, having differentiation inductive activity against animal tumorous cells and low toxicity, and capable of exhibiting improved carcinostatic activity.

**CONSTITUTION:**A carcinostatic agent containing a flavonoid of formula I (R1- R9 are H, OH or lower alkyloxy), e.g. apigenin (R1, R3 and R7 are OH) or nobletin (R1-R4, R6 and R7 are OCH3), and a monoglyceride of formula II(R10 is 10-30C fatty acid residue), e.g. glycerol monooleate as active constituents. The above-mentioned carcinostatic agent can be used by either one of oral and parenteral administration, and the daily dose thereof is 0.01-100mg/kg body weight for adults in the case of oral administration, and the upper limit thereof is preferably about 10mg/kg body weight. In the case of parenteral administration, the upper limit thereof is 10mg/kg body weight, particularly preferably about 2mg/kg body weight.



Data supplied from the **esp@cenet** database - Patent Abstracts of Japan

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-199817

⑬ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和60年(1985)10月9日

A 61 K 31/35  
// C 07 D 311/30

ADV

7330-4C  
6640-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑮ 発明の名称 制癌剤

⑯ 特 願 昭59-55333

⑰ 出 願 昭59(1984)3月23日

特許法第30条第1項適用 昭和58年9月25日 日本癌学会発行の「日本癌学会第42回総会記事」に発表

⑱ 発 明 者	高 橋	信 孝	和光市広沢2番1号	理化学研究所内
⑱ 発 明 者	旭	健 一	和光市広沢2番1号	理化学研究所内
⑱ 発 明 者	詫 間	智 子	和光市広沢2番1号	理化学研究所内
⑲ 出 願 人	理 化 学 研 究 所		和光市広沢2番1号	
⑲ 代 理 人	弁 理 士 中 村 稔		外3名	

明細書の浄書(内容に変更なし)

明 細 書

1. 発明の名称 制 癌 剤

2. 特許請求の範囲

- (1) フラボノイド及びモノグリセライドを有効成分として含有することを特徴とする制癌剤。
- (2) 非経口投与形態による特許請求の範囲第1項記載の制癌剤。
- (3) 経口投与形態による特許請求の範囲第1項記載の制癌剤。

2. 発明の詳細な説明

本発明は、フラボノイド及びモノグリセライドを有効成分として含有することを特徴とする制癌剤に関するものである。

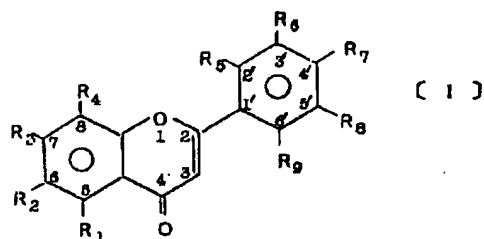
従来、癌化学療法剤として、アルキル化剤(ナイトロジエンマスタード類、エタレンイミン類、スルホン酸エステル類)、代謝拮抗物質(抗癌拮抗剤、プリン拮抗剤、ピリミジン拮抗剤)、植物性核分裂毒(コルセミド、ビンブラステン等)、抗生物質(サルコマイシン、カルテノフィリン、マイトマイシン等)、ホルモン類(副腎ステロイド、男性ホルモン、女性ホルモン)及びボルフィリン錯酸(マールフィリン、copp)等が用いられている。しかしながら、その殆んどは、細胞毒型の物質であり、重大な副作用を呈するため、低毒性で優れた制癌活性を有する制癌剤の開発が強く望まれている。

そこで、本発明者らは、上記の趣旨に鑑み、低毒性で制癌活性を有する物質について探索、鋭意研究の結果、前記化合物が動物の腫瘍細胞に対し

て分化誘導活性を有することを新たに見出し、且つ該物質が著しく胚毒性で、優れた制癌活性を有することの新たな知見を得て、本発明の制癌剤を完成するに至った。本発明の制癌剤の有効成分は、人、家畜、犬、猫等の温血動物に対する優れた癌化学療法剤となり得るものである。

本発明の有効成分である化合物としては、例えば、次の化合物を挙げることができる。

フラボノイドとしては、次の一般式〔I〕で表される化合物を挙げることができる。



(ただし、式中、 $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R_6, R_7, R_8, R_9$  は、それぞれ独立に、水素原子、ヒドロキシ基、低級アルキルオキシ基を示す。)

れも使用可能であり、経口投与する場合は、軟・硬カプセル剤又は錠剤、顆粒剤、細粒剤、散剤として投与され、非経口投与する場合は、水溶性懸濁液、油性製剤などの皮下投与は静脈注射剤、点滴剤及び固体制剤又は懸濁粘稠液状として持続的な粘膜吸収が維持できるように坐薬のような剤形で投与され得る。

本発明の有効成分の製剤化は、界面活性剤、賦形剤、滑沢剤、佐剤、及び必要に応じて腸溶性製剤とするために医薬的に許容し得る皮膜形成物質、コーティング助剤等を用いて適宜行うことができ、その具体例を挙げれば、次のとおりである。

本発明の組成物の崩壊、溶出を良好ならしめるために、界面活性剤、例えばアルコール、エステル類、ポリエチレングリコール誘導体、ソルビタンの脂肪酸エステル類、硫酸化脂肪アルコール類等の1種又は2種以上を添加することができる。

また、賦形剤として、例えば蔗糖、乳糖、アンプル、結晶セルロース、マンニト、軽質無水珪酸、アルミン酸マグネシウム、メタ珪酸アルミン

その具体例としては、次の化合物を挙げることができる。

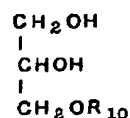
(1) アピゲニン (Apigenin)

( $R_1 = R_3 = R_7 = OH$ )

(2) ノビレチン (Nobiletin)

( $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_6 = R_7 = OCH_3$ )

又、一方の有効成分であるモノグリセライドは、下記的一般式〔II〕で表される。



(ただし、式中、 $R_{10}$  は炭素数10~30の脂肪酸残基を示す。)

その具体例としては、次の化合物を挙げることができる。

(3) グリセリンモノオレート (glycerine monooleate) ( $R_{10} = \text{オレイン酸}$ )

(4) グリセリンモノリノレート (glycerine monolinolate) ( $R_{10} = \text{リノレン酸}$ )

本発明の制癌剤は、経口及び非経口投与のいづ

酸マグネシウム、合成珪酸アルミニウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、リン酸水素カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の1種又は2種以上を組合せて添加することができる。

滑沢剤としては、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等を1種又は2種以上添加することができ、また矯味剤及び矯臭剤として、食塩、サッカリン、糖、マンニト、オレンジ油カンゾウエキス、クエン酸、ブドウ糖、メントール、ユーカリ油、リンゴ酸等の甘味剤、香料、着色料、保存料等を含有させてもよい。

懸濁剤、混濁剤の如き佐剤としては、例えばココナツト油、オリーブ油、ゴマ油、落花生油、乳酸カルシウム、ペニバナ油、大豆リン脂質等を含有させることができる。

また皮膜形成物質としては、セルロース、糖類等の炭水化物誘導体として酢酸フタル酸セルロース (CAP)、またアクリル酸系共重合体、二塩基酸モノエステル類等のポリビニル誘導体として

アクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体、メ  
タアクリル酸メチル・メタアクリル酸共重合体が  
挙げられる。

また、上記皮膜形成物質をコーティングするに  
際し、通常使用されるコーティング助剤、例えば  
可塑剤の他、コーティング操作時の薬剤相互の付  
着防止のための各種添加剤を添加することによつ  
て皮膜形成剤の性質を改良したり、コーティング  
操作をより容易ならしめることができる。なお、  
有効成分を皮膜形成物質を用いてマイクロカプセ  
ル化してから賦形剤等と混合した剤型としても良  
い。

特に代表的な剤型における配合比は下記の通り  
である。

なお、本発明の有効成分の混合比は、フラボノ  
イド：モノグリセライド＝1：2.5～5：1が適  
当である。

有効成分	0.1～90 重量%	0.3～15 重量%
賦形剤	10～99.8 "	85～99.4 "
滑沢剤	0～50 "	0～20 "
界面活性剤	0～50 "	0～20 "
皮膜形成物質	0.1～50 "	0.3～20 "

特に好ましい賦形剤は、乳糖、結晶セルローズ、  
カルボキシメチルセルロースカルシウムである。

また、投与量は、対象腫瘍を有効に治療するに  
十分な量であり、腫瘍の症状、投与経路、剤型な  
どによつて左右されるが、一般に、経口投与の場  
合、大人では1日当たり、約0.01～100mg/kg  
体重（小人では、0.01～60mg/kg体重）の範  
囲で、その上限は好ましくは約50mg/kg体重、  
更に好ましくは約10mg/kg体重程度であり、非  
経口投与の場合、その上限は約10mg/kg体重程  
度であり、好ましくは5mg/kg体重、更に好まし  
くは2mg/kg体重が適当である。

次に、本発明の化合物の制癌活性を確証した制

癌性試験について述べる。

#### ○フレンチ白血精細胞 (mouse erythroid leukemia cell, B8細胞) に対する試験

GIBCO製HAMのF-12培地に、15%  
の牛胎児血清及び60mg/Lのカナマイシンを加  
えたものに、 $2.5 \times 10^4$  cell/mlとなるように  
B8細胞を接種し、これに所定量の被験化合物を  
加える（最終容積5ml）。

2.5% CO<sub>2</sub> 中、37℃7日間培養した後、オル  
キン (Orkin) のベンジジン染色法により染色し、  
染色された細胞数、すなわち、赤血球への分化に  
よりヘモグロビンを生成するようになった細胞数  
を測定し、分化誘導率を求める。

$$\text{分化誘導率 (\%)} = \frac{\text{染色された細胞数}}{\text{全細胞数}} \times 100$$

なお、後述の試験例では、分化誘導作用をもつ  
て、制癌活性を示した。

以下に、本発明を製剤例及び試験例によつて具  
体的に説明する。

#### 製剤例 1 (注射・点滴剤)

化合物(1)5mg及び化合物(3)5mgを含有するよう  
に粉末ぶどう糖5gを加えてバイアルに無菌的に  
分配し、密封した上、窒素、ヘリウム等の不活性  
ガスを封入して冷蔵所に保存する。使用前にエタ  
ノールに溶解し、0.85%生理的食塩水100ml  
を添加して静脈内注射剤とし、1日、10～100  
mlを症状に応じて静脈内注射又は点滴で投与する。

#### 製剤例 2 (注射・点滴剤)

化合物(2)5mg及び化合物(4)5mgを用いて、製剤  
例1と同様の方法により軽症用静脈内注射剤とし、  
1日、10～100mlを症状に応じて静脈内注射  
又は点滴で投与する。

#### 製剤例 3 (腸溶性カプセル剤)

化合物(2)2.5g、化合物(3)2.5g、乳糖2.46g  
及びヒドロキシプロピルセルロース0.04gを各  
々とり、よく混合した後、常法に従つて粒状に成  
形し、これをよく乾燥して篩別してピン、ヒート  
シール包装などに適した顆粒剤を製造する。次に、  
酢酸フタル酸セルロース0.5g及びヒドロキシプ

ロビルメチルセルロースフタレート0.5gを溶解して被覆基材となし、前記顆粒を浮遊流動させつつこの基材を鼓攪して腸溶性の顆粒剤とする。この組成物をカプセルに充填して腸溶性カプセル製剤100個を製造する。

#### 試験例

フラボノイドは、アピゲニン(1)及びノビレチン(2)を、それぞれピリジンに溶解し、1~125  $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度範囲で使用し、モノグリセライドは、モノオレート(3)及びモノリノレート(4)を、それぞれ単独では細胞の分化に対し影響を与えない濃度(25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )で使用し、前記試験法により、赤血球性白血病細胞に対する分化誘導活性を調べた。その結果、第1図、第2図、第3図及び第4図の如き結果が得られた。

これを詳述すると、B8細胞におけるアピゲニン(Api)とモノグリセライド(グリセリンモノオレート:MO, グリセリンモノリノレート:ML)の分化に対する効果(第1図)では、モノグリセライド併用の方がApi単独の場合よりも $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{4}$

のApiの濃度で同等の分化誘導活性を示した。又併用することによつて細胞増殖の阻害が緩和された。

第2図は、Apiの増加に伴つて、B8細胞の増殖が抑えられていることが分る。

又Api 16  $\mu\text{g}/\text{ml}$ を用い、MO, MLを添加(25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )したものの経時変化を調べた。

第3図は、B8細胞の経時変化、又第4図は、ベンチジン・ポジティブ・セルの割合、すなわち分化誘導率を示すものである。

この結果、ポジティブ・コントロールのDMSO(ジメチルスルホキシド)による分化誘導が、細胞増殖の静止期に入る4日目からみられるのに対し、アピゲニンによる分化誘導は、2日目よりみられ、さらに、本発明のフラボノイドとモノグリセライド併用群では、3日目以降大きくあがり、アピゲニン単独のものに対し、極めて顕著な差を示していることが解つた。又、ノビレチンとモノグリセライドの場合も同様な効果が得られた。

上記試験例の結果から明らかなように、本発明

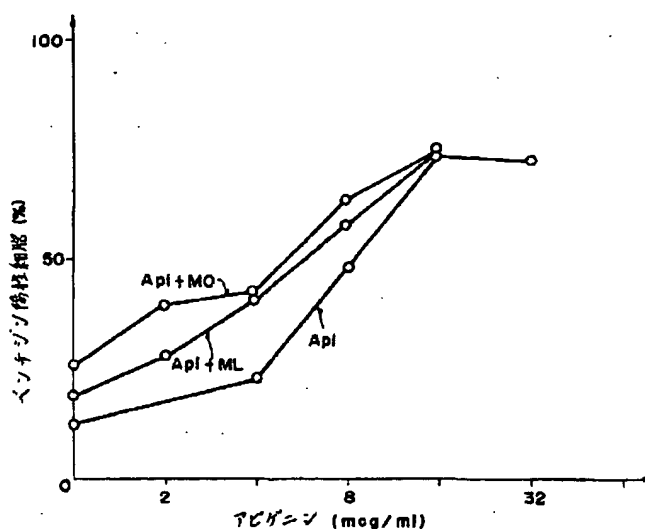
の有効成分の混合有効成分化合物は、癌細胞に対して、正常細胞への分化誘導作用を示すことから、毒性の少ない優れた制癌活性を示すことが立証された。

#### 4. 図面の簡単な説明

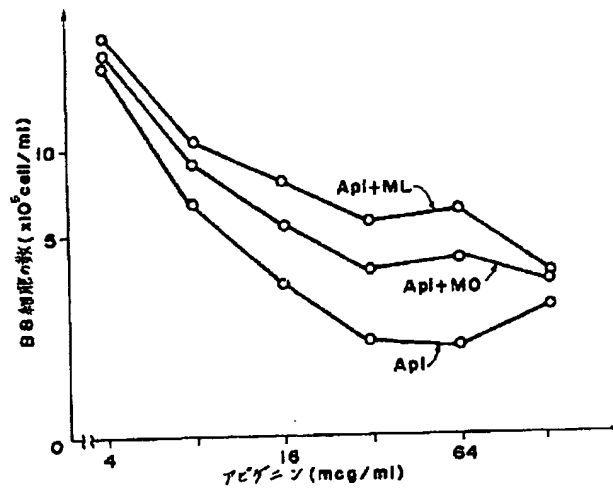
第1図は、本発明の有効成分であるアピゲニンとモノグリセライド(グリセリンモノオレート, グリセリンモノリノレート)の分化誘導に対する効果を示す図であり、第2図は、B8細胞に対する増殖抑制効果を示す図であり、第3図及び第4図は、それぞれ細胞増殖抑制及び分化誘導に対する効果を示す図である。

図面の浄書(内容に変更なし)

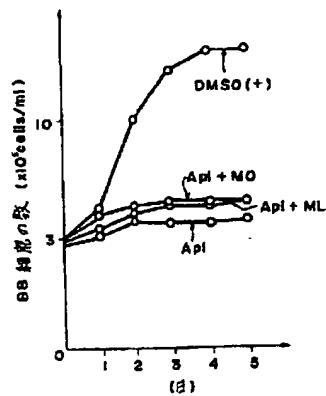
第1図



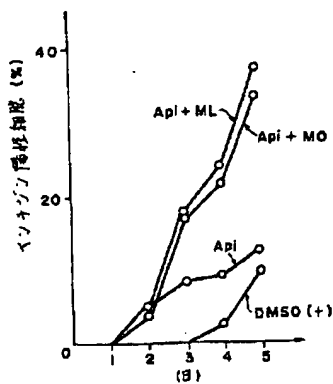
第2図



第3図



第4図



手続補正書 (方式)

昭和 年 月 日

59. 7. 25

特許庁長官 志賀 学 殿

1. 事件の表示 昭和59年特許願第5333号

2. 発明の名称 制 癌 剤

3. 補正をする者

事件との関係 出願人

名称 (679) 理 化 学 研 究 所

4. 代 理 人

住 所 東京都千代田区丸の内3丁目3番1号  
電話 (代) 211-8741

氏 名 (5995) 弁理士 中 村 隆

5. 補正命令の日付 昭和59年6月26日

6. 補正の対象

(1) 明細書  
(2) 代理権を証明する書面  
(3) 全図面

7. 補正の内容

別紙の通り

明細書及び図面の浄書 (内容に変更なし)。



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**